



Avaliação da atividade leishmanicida *in vitro* de plantas medicinais

**Jeamile L. Bezerra¹, Graciomar C. Costa², Thaiana C. Lopes², Izabelle C.D.S. Carvalho¹,
Fernando J. Patrício², Sanara M. Sousa², Flávia M.M. Amaral², José Manuel M. Rebelo³,
Rosane N.M. Guerra², Maria Nilce S. Ribeiro¹, Flávia R.F. Nascimento^{2*}**

¹Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Maranhão,
Campus do Bacanga, Av. dos Portugueses s/n, 65085-580, São Luís, Maranhão, Brasil,

²Laboratório de Imunofisiologia, Departamento de Patologia, Universidade Federal do Maranhão,
Campus do Bacanga, Av. dos Portugueses s/n, 65085-580, São Luís, Maranhão, Brasil,

³Laboratório de Entomologia e Vetores, Departamento de Biologia, Praça da Madre Deus, 2,
65025-580, São Luís, Maranhão, Brasil

RESUMO: Na busca de novos agentes leishmanicidas, avaliamos em culturas de promastigotas de *Leishmania amazonensis* o efeito dos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Tephrosia cinerea* (L.) Pers. (Fabaceae), *Dichorisandra* sp (Commelinaceae), *Syzygium jambolanum* DC. (Myrtaceae), *Julocroton triqueter* (Lam.) Didr. var. *triqueter* (Euphorbiaceae), *Passiflora edulis* Sims (Passifloraceae), *Cecropia* sp (Cecropiaceae), *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae), *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit (Euphorbiaceae), *Peristrophe angustifolia* Nees (Acanthaceae) e o extrato aquoso do mesocarpo de *Orbignya phalerata* Mart. (Arecaceae). As promastigotas de *Leishmania amazonensis* foram cultivadas em presença de 31,3; 63,5; 125,0; 250,0 e 500,0 µg/mL dos extratos por 24 horas. Ao final desse período foi calculada a concentração inibitória do crescimento (CI₅₀) em relação às culturas não tratadas com os extratos. Os extratos das espécies *J. triqueter*, *Dichorisandra* sp e *T. cinerea* apresentaram maior eficácia em induzir a morte das promastigotas, com CI₅₀ de 29,5; 32,9 e 43,6 µg/mL, respectivamente. *P. edulis*, *C. ambrosioides* e *S. jambolanum* apresentaram eficácia moderada com CI₅₀ de 150,1; 151,9 e 166,6 µg/mL, respectivamente. *P. tithymaloides* e *O. phalerata* apresentaram baixo efeito leishmanicida com CI₅₀ >500 µg/mL, enquanto *Peristrophe angustifolia* e *Cecropia* sp não apresentaram efeito. Dessa forma, dos dez extratos testados, três apresentaram uma expressiva atividade leishmanicida *in vitro*.

Unitermos: *Leishmania amazonensis*, atividade leishmanicida, plantas medicinais.

ABSTRACT: "Evaluation of the *in vitro* leishmanicidal activity of medicinal plants". Searching for new leishmanicidal agents, promastigotes forms of *L. amazonensis* were cultured with the hydroalcoholic extracts obtained from the *Tephrosia cinerea* (L.) Pers. (Fabaceae), *Dichorisandra* sp (Commelinaceae), *Syzygium jambolanum* DC. (Myrtaceae), *Julocroton triqueter* (Lam.) Didr. var. *triqueter* (Euphorbiaceae), *Passiflora edulis* Sims (Passifloraceae), *Cecropia* sp (Cecropiaceae), *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae), *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit (Euphorbiaceae), *Peristrophe angustifolia* Nees (Acanthaceae) leaves and the aqueous extract obtained from the *Orbignya phalerata* Mart. (Arecaceae) mesocarp flour. The *in vitro* assay was performed with promastigotes incubated during 24 hours with 31.3, 62.5, 125.0, 250.0 and 500.0 µg/mL of each extract. Then the inhibitory concentration of the parasite growth (IC₅₀) was determined. The effectiveness of *J. triqueter*, *Dichorisandra* sp and *T. cinerea* hydroalcoholic extracts to induce promastigotes death was intense since the IC₅₀ were 29.5; 32.9 and 43.6 µg/mL, respectively. *P. edulis*, *C. ambrosioides* and *S. jambolanum* extracts had moderated effectiveness since the IC₅₀ were 150.1; 151.9 and 166.6 µg/mL, respectively. *P. tithymaloides* and *O. phalerata* extracts showed a low efficacy in comparison with IC₅₀ >500 µg/mL. *Peristrophe angustifolia* and *Cecropia* sp extracts had no leishmanicidal effect. Thus, three of the ten extracts that were tested showed a significant *in vitro* leishmanicidal activity.

Keywords: *Leishmania amazonensis*, leishmanicidal activity, medicinal plants.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença infecciosa, não contagiosa, causada por protozoários do gênero *Leishmania*, endêmica ao redor do mundo, que afeta mais de 12 milhões de pessoas mundialmente e apresenta alta endemicidade, morbidade e mortalidade em populações da África, Ásia e América Latina (WHO, 2002, Dujardin, 2006).

No Brasil ocorre em todo o território, tanto a Leishmaniose visceral (LV) como a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), as quais são endêmicas nas regiões Norte e Nordeste, devido principalmente às características econômicas e culturais dessas populações, predominando principalmente nos estados da Bahia, Ceará, Piauí e Maranhão (Ministério da Saúde, 2000; Rath et al., 2003).

O Estado Maranhão apresenta grande incidência

de leishmanioses em 88% de seus municípios, sendo o município de Buriticupu, situado na região pré-amazônica do Estado, o que apresenta os mais altos coeficientes de detecção da LTA (Silva et al., 1979; Costa et al., 1998; Rebêlo et al., 2001a,b; Rebêlo et al., 2000 a,b; Martins, 2002; Caldas et al., 2002).

O tratamento das leishmanioses é feito à base de antimoniais pentavalentes, anfotericina B e pentamidinas, as quais são tóxicas, de custo elevado, difícil administração e podem causar resistência ao parasito (Rath et al., 2003; Croft; Coombs 2003). Novas drogas como miltefosine, um hexadecil-fosfolina, têm demonstrado ser efetivo para o tratamento de LV, muito embora apresentem também alta toxicidade (Sindermann et al., 2004). A internação prolongada e os efeitos adversos como alterações cardíacas, renais, pancreáticas e hepáticas dificultam a adesão ao tratamento. Considerando as dificuldades de tratamento e a ausência de vacinas, há urgência na busca de novas drogas terapêuticas dentre as quais se incluem os fitoterápicos (Carvalho; Ferreira, 2001; Paula et al., 2003; Nakamura et al., 2006).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as espécies vegetais são a melhor e maior fonte de fármacos para humanidade. Estudos etnobotânicos têm demonstrado o uso popular de plantas no tratamento das leishmanioses tanto por via oral, como na aplicação tópica sobre as lesões cutâneas (França et al., 1993; 1996; Mathias; Emily, 1993; Silva et al., 1995; Moreira et al., 2002). Muitos vegetais apresentam em sua composição substâncias das classes dos alcalóides, terpenos, lignanas, chalconas, flavonóides e lactonas sesquiterpênicas, compostos descritos na literatura como eficazes na atividade leishmanicida e/ou anti-*Leishmania* (Iwu et al., 1994; Queiroz et al., 1996; Torres-Santos, 1999; Kam et al., 1999; Rocha et al., 2005).

Este trabalho avaliou o efeito leishmanicida *in vitro* dos extratos hidroalcoólicos de folhas das espécies *Tephrosia cinerea* (L.) Pers., *Dichorisandra* sp, *Syzygium jambolanum* D.C., *Julocroton triqueter* (Lam.) Didr. var. *triqueter*, *Passiflora edulis* Sims, *Chenopodium ambrosioides* L., *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit., *Peristrophe angustifolia* Nees, *Cecropia* sp e do extrato aquoso do mesocarpo de *Orbignya phalerata* Mart., em formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Folhas de *Tephrosia cinerea* (L.) Pers. (Fabaceae), *Dichorisandra* sp (Commelinaceae), *Syzygium jambolanum* DC. (Myrtaceae), *Julocroton triqueter* (Lam.) Didr. var. *triqueter* (Euphorbiaceae), *Passiflora edulis* Sims (Passifloraceae), *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae), *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. (Euphorbiaceae), *Peristrophe angustifolia* Nees (Acanthaceae) e *Cecropia* sp

(Cecropiaceae) foram coletadas no Campus da Universidade Federal do Maranhão (Bacanga/São Luís, MA/Brasil) no período de julho a setembro de 2004.

O pó do mesocarpo de *Orbignya phalerata* Mart. (Arecaceae) foi obtido comercialmente da empresa HENSA FARMA, São Luís, MA, Brasil. Este produto comercial foi previamente submetido a análise de autenticidade, integridade e pureza por testes físico-químicos. O pó comercial apresentou similaridade em todos os aspectos botânicos e fitoquímicos testados quando comparado com o pó de mesocarpo obtido no próprio laboratório (Batista; Ribeiro, 2003). Para identificação botânica os frutos de *O. phalerata* foram coletados em Pedreiras-MA, Brasil.

As identificações botânicas foram realizadas pela Dra. Terezinha de Jesus Almeida Rêgo, no Herbário Ático Seabra, da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), onde as exsicatas estão depositadas conforme numeração descrita na Tabela 1.

Preparação dos extratos

O pó do mesocarpo de *O. phalerata* (20g), foi macerado em água, filtrado, obtendo-se o extrato aquoso. Os demais extratos foram preparados a partir das folhas. As folhas foram secas em temperatura ambiente e trituradas em moinho. O pó das folhas das espécies *Dichorisandra* sp (39,2g), *T. cinerea* (480g), *S. jambolanum* (200g), *J. triqueter* (398,6g), *P. edulis* (100g), *C. ambrosioides* (200g), *Cecropia* sp (200g), *P. tithymaloides* (74,8g), *P. angustifolia* (127g) foram então extraídas, exaustivamente, por maceração com etanol a 70%. As soluções extrativas foram submetidas à filtração e, em seguida, concentradas em rotoevaporador à pressão reduzida. Os resíduos secos foram diluídos em solução tamponada de fosfato (PBS pH 7,2) a uma concentração final de 1mg/mL.

Atividade leishmanicida *in vitro*

As formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (MHOM/Br/90/BA125) foram cedidas pela Dra Aldina Barral do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPQGM), da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador-BA.

As culturas de promastigotas foram mantidas a 26 °C em meio NNN enriquecido com RPMI 1640, suplementado com soro fetal bovino inativado a 10% (SIGMA), L-glutamina 2mM (GIBCO) e os antibióticos penicilina (100 U/mL) e estreptomicina (100 µg/mL) (SIGMA). Antes de cada experimento observou-se ao microscópio a motilidade flagelar dos parasitos.

Para os ensaios, o extrato previamente obtido foi diluído cinco vezes em meio Schneider completo, obtendo-se a concentração de 1 mg/mL. Deste, foram retirados 100 µL os quais foram diluídos seriadamente, em placas de 96 poços de fundo chato (Costar), na

Tabela 1. Espécies vegetais utilizadas nesse trabalho.

Nome científico	Família	Exsicata
<i>Cecropia</i> sp	Cecropiaceae	1107
<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Chenopodiaceae	1148
<i>Dichorisandra</i> sp	Commelinaceae	1259
<i>Julocroton triqueter</i> (Lam.) Didr. var. <i>triqueter</i>	Euphorbiaceae	1265
<i>Orbignya phalerata</i> Mart.	Areceaceae	1135
<i>Passiflora edulis</i> Sims	Passifloraceae	1155
<i>Pedilanthus tithymalooides</i> (L.) Poit.	Euphorbiaceae	1250
<i>Peristrophe angustifolia</i> Nees	Acanthaceae	1342
<i>Syzygium jambolanum</i> DC.	Myrtaceae	1079
<i>Tephrosia cinerea</i> (L.) Pers	Fabaceae	1256

proporção de 1:2 em meio RPMI completo, resultando nas concentrações finais de 500, 250, 125, 62,5 e 31,25 µg/mL.

Em cada poço foram, então, adicionados 10 µL da suspensão contendo 5×10^6 formas promastigotas de *L. amazonensis* por mL. Glucantime®, droga de referência no tratamento das leishmanioses, foi utilizado nas mesmas concentrações dos extratos. Como controle foram utilizadas as formas promastigotas cultivadas em meio RPMI 1640 suplementado.

A atividade leishmanicida dos extratos foi avaliada pela inibição do crescimento de formas promastigotas após 24 h de incubação a 26 °C, pela contagem do número total de promastigotas vivas, levando-se em consideração a motilidade flagelar, utilizando-se câmara de Neubauer e microscópio ótico de luz comum. A contagem foi comparada com o controle do crescimento das formas promastigotas sem os extratos. Cada concentração dos extratos foi analisada em triplicata. Os resultados foram expressos como concentração inibitória do crescimento parasitário (CI₅₀), baseado em Schmeda-Hirschman et al., (1996) e Camacho et al., (2003).

Análise estatística

Todos os ensaios foram realizados em triplicata e repetidos pelo menos uma vez. Os resultados foram expressos como concentração inibitória do crescimento parasitário (CI₅₀), calculados por regressão linear.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diversos compostos químicos, isolados de extratos vegetais, têm comprovada atividade leishmanicida sobre formas promastigotas e/ou amastigotas de *Leishmania* em ensaios *in vitro*. Já foi relatada a atividade leishmanicida de terpenóides (Sauvain et al., 1996; Camacho et al., 2000), aminoglicosteróides e aminosteróides (Kam et al., 1997), naftoquinonas (Fournet et al., 1992; Kayser et al., 2000), chalconas (Chen et al., 1993; Boeck et al., 2006), glicosídeos iridóides (Mittal et al., 1998), flavonóides (Araújo et al., 1998), lignanas (Barata et al., 2000; Royo et al., 2003) e de alcalóides (Mahiou et al., 1994; Fournet et al., 1996; Queiroz, et al., 1996). Apesar dos vários estudos nesta área, ainda existem muitas espécies vegetais com potencial atividade leishmanicida a serem avaliadas.

Tabela 2. Atividade leishmanicida dos extratos vegetais

Nome Científico	Farmacógeno/ Extrato	Atividade Leishmanicida CI ₅₀ (µg/mL)
<i>Cecropia</i> sp	Folhas / EH	s/ atividade
<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Folhas / EH	151,9
<i>Dichorisandra</i> sp	Folhas / EH	32,9
<i>Julocroton triqueter</i> (Lam.) Didr. var. <i>triqueter</i>	Folhas / EH ^a	29,5
<i>Orbignya phalerata</i> Mart.	Mesocarpo / fruto / EA ^b	>500
<i>Passiflora edulis</i> Sims	Folhas / EH	150,1
<i>Pedilanthus tithymalooides</i> (L.) Poit.	Folhas / EH	>500
<i>Peristrophe angustifolia</i> Nees	Folhas / EH	s/atividade
<i>Syzygium jambolanum</i> DC.	Folhas / EH	166,6
<i>Tephrosia cinerea</i> (L.) Pers	Folhas / EH	43,6
Glucantime®.	Droga referência	440,3

^aEH – Extrato Hidroalcoólico

^bEA – Extrato Aquoso

Neste trabalho foi avaliado o efeito leishmanicida de dez extratos de plantas de diferentes famílias. A escolha das espécies nesse estudo foi baseada na quimiosistemática dos gêneros, no uso popular no tratamento de úlceras e na disponibilidade local.

A avaliação dos extratos das espécies mostrou que seis deles apresentaram atividade leishmanicida significativa, sendo que três espécies, *J. triqueter*, *Dichorisandra* sp e *T. cinerea* apresentaram maior eficácia, com base na CI_{50} (29,5; 32,9 e 43,6 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) como mostra a Tabela 2. Os extratos de *T. cinerea* e *J. triqueter* var. *triqueter* apresentaram 100% de atividade leishmanicida nas concentrações de 500 e 250 $\mu\text{g/mL}$, e *Dichorisandra* sp. apresentou 100% de atividade na maior concentração testada.

Julocroton triqueter var. *triqueter*, a espécie mais efetiva, é conhecida popularmente como velame, sendo encontrada desde a região Norte até a região Sudeste do Brasil. O pó das suas folhas é usado no tratamento de úlceras, sífilis e como depurativo (Pio Corrêa, 1984), porém, há poucos estudos farmacológicos e/ou químicos sobre essa espécie, muito embora já tenham sido identificados alcalóides no gênero *Julocroton* (Suarez et al., 2004).

Dichorisandra sp, a segunda espécie mais eficaz, é popularmente conhecida como penicilina sendo indicada popularmente para tratar infecções. Martinez et al. (1993) relataram a presença de glicosídeos de apigenina, luteolina, quercetina, 6-hidroxiluteolina e tricina em três espécies do gênero *Dichorisandra*. Mittra et al. (2000) demonstraram efeito inibitório *in vitro* dos flavonóides luteolina e quercetina sobre o crescimento de formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania donovani*, uma das espécies responsáveis pela leishmaniose visceral. Esses autores também demonstraram que o tratamento *in vivo*, por via oral, com essas substâncias, causou uma significativa redução da carga parasitária em baços de hamsteres infectados com *L. donovani*.

As folhas de *Tephrosia cinerea* (L.) Pers., conhecida como anil bravo, são utilizadas pela população para tratar infecções, inflamações, úlceras, afecções nervosas e diarreias (Pio Corrêa, 1994). Sharma et al. (2003) demonstraram a ação anti-leishmanicida do extrato metanólico das folhas de *T. purpurea*, uma espécie medicinal indiana, frente à espécie *Leishmania donovani*.

Os extratos de *Passiflora edulis*, *Chenopodium ambrosioides* e *Syzygium jambolanum* apresentaram atividade leishmanicida menor que os outros três extratos citados anteriormente, com CI_{50} de 150,1; 151,9 e 166,6 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Tabela 2). O extrato de *P. edulis* apesar de ocasionar 100% de inibição no crescimento das formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* na maior dose testada, apresentou CI_{50} similar à detectada nos extratos de *C. ambrosioides* e *S. jambolanum*, que apresentaram respectivamente 63,6% e 88% de inibição da *Leishmania amazonensis* na maior dose testada.

Chenopodium ambrosioides conhecido vulgarmente como mastruz, tem sido usado no nordeste brasileiro no tratamento de helmintíases, bronquite, tuberculose, contusões, fraturas e feridas (França et al., 1996; Rêgo, 1995; Matos, 2000; Pereira et al., 2004; Morais et al., 2005; Tôrres et al., 2005). A ação anti-helmíntica da planta foi associada ao alto teor de ascaridol, presente no óleo essencial das folhas (Sousa et al., 1991). Moreira et al. (1998), ao estudarem o conhecimento e usos de terapias alternativas para Leishmaniose Tegumentar Americana, em populações no município de Buriticupu, Maranhão, constataram ser comum o uso de plantas sobre as feridas leishmanióticas, dentre as quais se incluem as folhas de mastruz. O dado obtido aqui pode justificar o uso popular deste vegetal no tratamento das úlceras leishmanióticas.

Passiflora edulis conhecida como maracujá, é tradicionalmente utilizada como calmante, pela população de todos os países ocidentais. É uma espécie cultivada no nordeste brasileiro para aproveitamento industrial do fruto (Matos, 2000). O efeito leishmanicida apresentado por esta espécie pode estar relacionado com a presença dos compostos flavonóides e/ou terpenóides evidenciados nas folhas desses vegetais (Dhawan et al., 2004).

Syzygium jambolanum, conhecido vulgarmente como jambolão, apresenta intensa atividade antibacteriana (Loguercio et al., 2005; Michelin et al., 2005). O extrato das folhas apresentou efeito leishmanicida moderado, o que poderia ser justificado pela presença de saponinas e taninos condensados e hidrolisáveis nas folhas (Alberton et al., 2001).

O extrato de *Pedilanthus tithymaloides*, cuja CI_{50} foi $>500 \mu\text{g/mL}$, não apresentou atividade leishmanicida tão intensa quanto o extrato de *J. triqueter*, apesar da espécie pertencer à família Euphorbiaceae. Da mesma forma, o extrato de *O. phalerata* apresentou atividade leishmanicida muito baixa ($CI_{50} >500$), mantendo-se na faixa de 20% de morte das promastigotas em todas as concentrações testadas.

Os extratos de *Peristrophe angustifolia* e de *Cecropia* sp não inibiram o crescimento das formas promastigotas, em nenhuma das concentrações testadas, havendo ainda um aumento do número de promastigotas viáveis, no caso do extrato de *Cecropia* sp, caracterizando assim um possível efeito pró-*Leishmania* desse extrato.

De acordo com o nosso conhecimento, este é o primeiro relato na literatura no qual os extratos das espécies aqui avaliadas são submetidos a ensaios de atividade leishmanicida. As plantas testadas são comuns no Brasil, algumas nativas, outras introduzidas e já bem aclimatadas, outras cultivadas, portanto, fáceis de serem encontradas, o que nos estimula a continuidade de estudos químicos biomonitorados na busca dos princípios ativos associados à atividade leishmanicida detectada. Esses dados sugerem que tratamentos alternativos podem ser eficientes no controle das leishmanioses.

CONCLUSÃO

Em nossa investigação para atividade leishmanicida com dez plantas encontradas na flora maranhense, três apresentaram uma expressiva atividade *in vitro* para *L. amazonensis*. Esses resultados indicam a necessidade de estudos futuros para a avaliação do caráter citotóxico dos extratos, da atividade em infecções, *in vivo*, bem como o fracionamento na busca das substâncias responsáveis pela ação leishmanicida encontrada.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo auxílio financeiro (Proc n° CNPq n° 550433/2001-5 e Proc. n° 620081/2004-0 ACT), pelas bolsas PIBIC para G.C.Costa, I.C.D.S.Carvalho, F.J.Patrício, S.M. Sousa e pela bolsa de Pós-doc de R.N.M.Guerra. À Capes pela bolsa de doutorado de F.M.M Amaral. À FAPEMA pela bolsa de mestrado de J.L. Bezerra. À Dra. Aldina Barral do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz-FIOCRUZ/BA, por fornecer as formas promastigotas de *L. amazonensis* utilizadas neste estudo. À Profa. Bárbara T. Silva do Departamento de Ciências Fisiológicas/UFMA pela concessão do extrato da espécie *Passiflora edulis*.

REFERÊNCIAS

- Alberton JR, Ribeiro A, Sacramento LVS, Franco SL, Lima MAP 2001. Caracterização farmacognóstica do jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels. *Rev Bras Farmacogn* 11: 37-50.
- Araújo CAC, Alegrio LV, Leon LL 1998. Antileishmanial activity of compounds extracted and characterized from *Centrolobium sclerophyllum*. *Phytochemistry* 49:751-754.
- Barata LES, Santos LS, Ferri PH, Phillipson JD, Paine A, Croft SL 2000. Anti-leishmanicidal activity of neolignans from *Virola* species and synthetic analogues. *Phytochemistry* 55: 589-595.
- Batista SM, Ribeiro MNS. 2003. Controle de qualidade de *Orbignya phalerata* Mart. In: *Seminário de Iniciação Científica*, 15. São Luís-MA, p.23.
- Boeck P, Falcão CAB, Leal PC, Yunes RA, Cechinel Filho V, Torres-Santos EC, Rossi-Bergmann B 2006. Synthesis of chalcone analogues with increased antileishmanial activity. *Bioorg Med Chem* 14: 1538-1545.
- Caldas AJM, Costa JML, Silva AAM, Vinhas V, Barral A 2002. Risk factors associated with asymptomatic infection by *Leishmania chagasi* in Northeast Brazil. *T Roy Soc Trop Med H* 96: 21-28.
- Camacho MR, Phillipson JD, Croft LS, Kirby GC, Warhurst DC, Solis PN 2000. Terpenoids from *Guarea rhopalocarpa*. *Phytochemistry* 56: 203-210.
- Camacho MR, Phillipson SL, Croft PN, Marshall SJ, Ghazanfar SA 2003. Screening of plants extracts for antiprotozoal and cytotoxic activities. *J Ethnopharmacol* 89: 185-191.
- Carvalho PB, Ferreira EI 2001. Leishmaniasis phytotherapy. Nature's leadership against an ancient disease. *Fitoterapia* 72: 599-618.
- Chen M, Brogger Christensen S, Blom J, Lemmich E, Nadelmann L, Fich K, Theander TG, Kharazmi A 1993. Licochalcone A, a novel antiparasitic agent with potent activity against human pathogenic protozoan species of *Leishmania*. *Antimicrob Agents Ch* 37: 2550-2556.
- Costa JML, Balby IAT, Rocha EJS, Silva ARS, Rebêlo JMM, Ferreira LA, Gama EA, Branco MRFC, Burattini MN, Soares NJS 1998. Estudo comparativo da leishmaniose tegumentar americana em crianças procedentes das áreas endêmicas de Buriticupu (Maranhão) e Corte de Pedra (Bahia)-Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 31: 279-288.
- Croft S, Coombs G 2003. Leishmaniasis, current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *Trends Parasitol* 19: 502-508.
- Dhawan K, Dhawan S, Sharma A 2004. *Passiflora*: a review update. *J Ethnopharmacol* 94: 1-23.
- Dujardin J-C 2006. Risk factors in the spread of leishmaniasis: towards integrated monitoring? *Trends Parasitol* 22: 4-6
- Fournet A, Barrios AA, Munõz V, Hocquemiller CA 1992. Effects of natural naphthoquinones in BALB/c mice infected with *Leishmania amazonensis* and *L. venezuelensis*. *Ann Trop Med Parasit* 43: 219-222.
- Fournet A, Ferreira ME, Rojas AA, Torres OS, Fuentes S, Nakayama H, Schinini A 1996. *In vitro* efficacy of oral and intralesional administration of 2-substituted quinolines in experimental treatment of new world cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania amazonensis*. *Antimicrob Agents Ch* 40: 2447-2451.
- França F, Cuba CA, Moreira EA, Almeida M, Virgens ML, Marsden PD 1993. Avaliação do efeito do extrato de casca de cajueiro-branco (*Anacardium occidentale*) sobre a infecção por *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Rev Soc Bras Med Trop* 26:151-155.
- França F, Lago EL, Marsden PD 1996. Plants used in the treatment of leishmanial ulcers due to *Leishmania (Viannia) braziliensis* in the endemic area of Bahia, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 29: 229-232.
- Iwu MM, Jackson JE, Schuster BG 1994. Medicinal plants in the fight against leishmaniasis. *Parasitol Today* 10: 65-68.
- Kam TS, Sim KM, Koyana T, Toyoshima M, Hayash M, Komiyama K 1997. Cytotoxic and leishmanicidal aminoglycoesteroids and aminosteroids from *Holarrhena curtisii*. *J Nat Prod* 61: 1332-1336.
- Kam TS, Sim KM, Koyano T, Toyoshima M, Komiyama K 1999. Leishmanicidal alkaloids from *Kopsia griffithii*. *Phytochemistry* 50: 75-79.
- Kayser O, Kiderlen AF, Laatsch H, Croft SL 2000. *In vitro* leishmanicidal activity of monomeric and dimeric naphthoquinones. *Acta Tropica* 77: 307-314.
- Loguercio AP, Battistin A, Castagna de Vargas A, Niura AH, Witt M 2005. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells) *Ciência Rural* 35: 371-376.
- Mahiou V, Roblot F, Hocquemiller R, Cave A, Rojas de Arias A, Inchausti A, Yaluff G, Fournet A 1994. Aporphine alkaloids from *Guatteria foliosa*. *J Nat Prod* 57: 890-895.
- Martínez MA, Del P, Swain T 1993. Flavonoids and

- chemotaxonomy of the Commelinaceae. *Biochem System Ecol* 13: 391-402.
- Martins LM 2002. *Ocorrência da leishmaniose tegumentar e sua relação com impactos ambientais em Buriticupu, Amazônia do Maranhão*. Dissertação (Saúde e Ambiente), Universidade Federal do Maranhão. Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente. São Luís. 70p.
- Matos FJA 2000. *Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil*. 2ª ed. Fortaleza: IU.
- Mathias LA, Emily A 1993. Tapping and Amazonian plethora: four medicinal plants of Marajó Island, Pará - Brazil. *J Ethnopharmacol* 40:53-75.
- Michelin DC, Moreschi PE, Lima AC, Nascimento GGF, Paganelli MO, Chaud MV 2005. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. *Rev Bras Farmacogn* 15: 316-320.
- Ministério da Saúde (FUNASA) 2000. *Manual de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana*. Brasília: Centro Nacional de Epidemiologia, FUNASA, MS.
- Mittra B, Saha A, Chowdhury AR, Pal C, Mandal S, Mukhopadhyay S, Bandyopadhyay S, Majumder HK 2000. Luteolin, an abundant dietary component is a potent anti-leishmanial agent that acts by inducing topoisomerase ii-mediated kinetoplast DNA cleavage leading to apoptosis. *Mol Med* 6: 527-541.
- Mittal N, Gupta N, Saksena S, Goyal N, Roy U, Rastogi AK 1998. Protective effect of picrolive from *Pichrorhiza kurroa* against *Leishmania donovani* infections in *Mesocricetus auratus*. *Life Sci* 63: 1823-1834.
- Morais SM, Dantas JDP, Silva ARA, Magalhães EF 2005. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. *Rev Bras Farmacogn* 15: 169-177.
- Moreira RCR, Costa JML, Saldanha AC, Silva AR 1998. Projeto Buriticupu Maranhão II. Plantas usadas como terapêutica da leishmaniose tegumentar americana na região de Buriticupu-Maranhão. *Rev Soc Bras Med Trop* 31(Supl. 1): T248, 126.
- Moreira RCR, Rebêlo JMM, Gama MEA, Costa JML 2002. Nível de conhecimento sobre Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e uso de terapias alternativas por populações de uma área endêmica da Amazônia do Maranhão, Brasil. *Cad Saúde Pub* 18: 187-195.
- Nakamura CV, Santos AO, Vendrametto MC, Luize OS, Dias Filho BP, Cortez DAG, Ueda-Nakamura T 2006. Atividade antileishmaniana do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *palescens* (C. DC.) Yunck. *Rev Bras Farmacogn* 16: 61-66.
- Paula CDR, Sampaio JHD, Cardoso DRC, Sampaio RNR 2003. Estudo comparativo da eficácia de isotionato de pentamidina administrada em três doses durante uma semana e de N-metil-glucamina 20mgSbV/Kg/dia durante 20 dias para o tratamento da forma cutânea da leishmaniose tegumentar americana. *Rev Soc Bras Med Trop* 36:365-371.
- Pereira RC, Oliveira MTR, Lemos GCS 2004. Plantas utilizadas como medicinais no município de Campos de Goytacazes – RJ. *Rev Bras Farmacogn* 14 (Supl. 1): 37-40.
- Pio Corrêa P 1984. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, vol. 5. Imprensa Nacional, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, Brasil.
- Queiroz EF, Roblot F, Cave A 1996. Pseudoephedrine and spinosine, two catecholic berberines from *Annona spinescens*. *J Nat Prod* 59: 438-440.
- Rath S, Trivelin LA, Imbrunito TR, Tomazela DM, Jesus MN, Marzal PC, Andrade Júnior HF, Tempone AG 2003. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. *Quim Nova* 26: 550-553.
- Rebêlo JMM, Oliveira ST, Barros VLL, Silva FS, Costa JML, Ferreira LAA, Silva AR 2000a. Plebotominae (Diptera: Psychodidae) de Lagoas, município de Buriticupu, Amazônia Maranhense. I - Riqueza e abundância relativa das espécies em área de colonização recente. *Rev Soc Bras Med Trop* 33: 11-19.
- Rebêlo JMM, Oliveira ST, Barros VLL, Silva FS 2000b. Flebotomíneos da Amazônia Maranhense. IV - Riqueza e abundância relativa das espécies em área de colonização antiga. *Entomol Vect* 7: 61-72.
- Rebêlo JMM, Oliveira ST, Barros VLL, Silva FS, Costa JML, Ferreira LAA, Silva AR 2001a. Flutuações dos flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em área de colonização recente do Município de Buriticupu, Amazonia maranhense, Brasil. *Rev Bras Entomol* 45:11-16.
- Rebêlo JMM, Oliveira ST, Silva FS, Costa JML 2001b. Sandflies (Diptera, Psychodidae) of the Amazonia of Maranhão. V. Seasonal occurrence ancient colonization area and endemic for cutaneous leishmaniasis. *Rev Bras Biol* 61:107-115.
- Rego TJS 1995. *Fitogeografia de plantas medicinais do Maranhão*. São Luís: Edufma. 133p.
- Rocha LG, Almeida JRGS, Macêdo RO, Barbosa Filho JM 2005. A review of natural products with antileishmanial activity. *Phytomedicine* 12: 514-535.
- Royo VA, Santos FF, Souza VA, Pereira AC, Da Silva R, Vinhólis AHC, Donato PM, Silva MLA, Albuquerque S, Bastos JK 2003. Biological activity evaluation of dibenzilbutirolactones lignans derivatives against *Leishmania braziliensis*. *Rev Bras Farmacogn* 13(Supl.): 18-21.
- Sauvain M, Kunesch N, Poisson J, Gantier J-C, Gayral P, Dedet J-P 1996. Isolation of leishmanicidal triterpenes and lignans from Amazonian liana *Dolioscarpus dentatus* (Dellineaceae) *Phytother Res* 10:1-4.
- Schmeda-Hirschmann G, Razmilic I, Sauvain M, Moretti C, Munoz V 1996. Antiprotozoal activity of jatrogrossidione from *Jatropha grossidentata* and jatrophone from *Jatropha isabelli*. *Phytother Res* 10: 375-378.
- Sharma P, Rastori S, Bahatnager S, Srivastava JK, Dube A, Guru PY, Kulshreshtha DH, Dhawan BN 2003. Antileishmanial action of a plant *Tephrosia purpurea* against experimental visceral leishmaniasis. *Drug Develop Res* 60: 285-293.
- Silva AR, Martins G, Melo GEN, Araújo P, Mendes MG 1979. Surto epidêmico de leishmaniose tegumentar americana ocorrido na colonização agrícola de Buriticupu (Estado do Maranhão), Brasil. *Rev Inst Med Trop* 21: 1-62
- Silva SAG, Da Costa SS, Mendonça SCF, Silva EM, Moraes

- VLG, Rossi-Bergman B 1995. Therapeutic effect of oral *Kalanchoe pinnata* leaf extract in murine leishmaniasis. *Acta Tropica* 60: 201-210.
- Sindermann H, Croft SL, Engel KR, Bommer W, Eibl HJ, Unger C, Engel J 2004. Miltefosine (Impavido): the first oral treatment against leishmaniasis. *Med Microbiol Immunol* 193: 173-180.
- Sousa MP, Matos MEO, Matos FJA, Machado MIL, Craveiro AA 1991. *Constituintes químicos de plantas medicinais brasileiras*. Fortaleza:EUFC.
- Suarez AI, Blanco Z, Delle Monache F, Compagnone RS, Arvelo F 2004. Three new glutarimide alkaloids from *Croton cuneatus*. *Nat Prod Res* 18: 421-426.
- Tôrres AR, Oliveira RAG, Diniz MFFM, Araújo EC 2005. Estudo sobre o uso de plantas medicinais em crianças hospitalizadas da cidade de João Pessoa: riscos e benefícios. *Rev Bras Farmacogn* 15: 373-380.
- Torres-Santos EC, Moreira DL, Kaplan MAC, Meirelles MN, Bergmann BR 1999. Selective effect of 2,6-dihydroxy-4-methoxychalcone isolated from *Piper aduncum* on *Leishmania amazonensis*. *Antimicrob Agents Ch* 43: 1234-1241.
- World Health Organization 2002. The leishmaniasis and Leishmania/HIV co-infections. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs116/en/>. Consultado em 10/11/05.